



PCT/FR 03 / 0 2 4 7 3

REC'D 07 NOV 2003

WIPO

PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 13 AOUT 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété Industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



6 bis, rue de Saint Pétersbourg
5800 Paris Cedex 08
téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

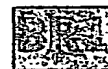
BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11354*02

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 010201

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES
DATE

LIEU

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE
PAR L'INPI

7 AOUT 2002

75 INPI PARIS

0210042

07 AOUT 2002

☒ NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

Cabinet REGIMBEAU
20, rue de Chazelles
75847 PARIS CEDEX 17
FRANCE

Vos références pour ce dossier

(facultatif)

239948 D20478 THG

Confirmation d'un dépôt par télécopie

☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie

Demande de brevet

☒

Demande de certificat d'utilité

☐

Demande divisionnaire

☐

Demande de brevet initiale

N°

Date

ou demande de certificat d'utilité initiale

N°

Date

Transformation d'une demande de
brevet européen Demande de brevet initiale

☐

N°

Date

☒ TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

EXTRAITS DE SANGSUES POUR STENTS.

☒ DÉCLARATION DE PRIORITÉ
OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE
LA DATE DE DÉPÔT D'UNE
DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

☒ DEMANDEUR (cochez l'une des 2 cases)

☒ Personne morale

☐ Personne physique

Nom
ou dénomination sociale

RICARIMPEX

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

Domicile
ou
siège

Rue

245, avenue de Saint Médard, 33320 EYSINES

Code postal et ville

Pays

FRANCE

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

Française

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

☐ S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Remplir impérativement la 2^{ème} page

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES
DATE

LIEU

7 AOUT 2002

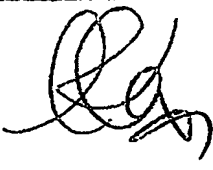
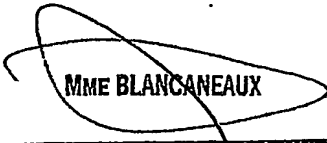
75 INPI PARIS

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

0210042

DB 540 W / 010901

Vos références pour ce dossier : (facultatif)		239948 THG
6 MANDATAIRE (s) (facultatif)		
Nom		
Prénom		
Cabinet ou Société		Cabinet REGIMBEAU
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		
Adresse	Rue	20, rue de Chazelles
	Code postal et ville	75847 PARIS CEDEX 17
	Pays	
N° de téléphone (facultatif)		01 44 29 35 00
N° de télécopie (facultatif)		01 44 29 35 99
Adresse électronique (facultatif)		info@regimbeau.fr
7 INVENTEUR (S)		
Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques		
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
8 RAPPORT DE RECHERCHE		
Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)		
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		
Uniquement pour les personnes physiques		
<input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition)		
<input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG <input type="text"/>		
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes		
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI
 92-1234		 MME BLANCANEUX

L'invention concerne l'obtention de substances biologiquement actives à propriétés cosmétiques ou pharmaceutiques se présentant sous forme de liposomes. Plus précisément ces liposomes sont des liposomes naturels extraits de sangsues médicinales. Ces liposomes naturels présentent des propriétés à la fois anti-coagulantes et immuno-modulatrices.

On connaît déjà des composés ayant des propriétés anti-coagulantes, tels que l'héparine, et des composés ayant des propriétés immuno-modulatrices. De tels composés sont utilisés en thérapeutique, et administrés par exemple par l'intermédiaire de supports physiquement acceptables dénommés « stents ».

Ces stents sont des endoprothèses, couramment utilisés en chirurgie cardiovasculaire pour être implantés dans un conduit vasculaire, notamment artère coronaire ou artère périphérique. Il est connu de traiter les maladies athéromateuses vasculaires, qui correspondent à des rétrécissements des artères, par des techniques de dilatation par ballonnet, techniques dénommées angioplasties. Le ballonnet est introduit dans l'artère, gonflé à une pression telle qu'il écrase le dépôt d'athéromes. Ces techniques n'étant toutefois pas toujours suffisantes, il est connu d'implanter dans le conduit vasculaire au niveau de la zone traitée par angioplastie, une endoprothèse plus communément appelée stent, typiquement support métallique agissant comme tuteur une fois qu'il est introduit à l'intérieur de l'artère au niveau de la zone traitée. De tels stents sont par exemple sertis sur le ballonnet, dans une position dite de repos, préalablement à l'introduction du ballonnet dans le conduit vasculaire. Une fois le stent acheminé jusqu'à la zone d'implantation à l'intérieur du conduit vasculaire, il est déployé par expansion du ballonnet de manière à être amené au contact de la paroi du conduit vasculaire à élargir.

Il est connu de couvrir des stents à l'aide de substances thérapeutiquement actives destinées à agir notamment dans la zone d'implantation.

Un très grand nombre de dispositifs stents sont connus de l'art antérieur. Des méthodes et appareils pour libérer des substances actives à partir de dispositifs de type stents sont décrits par exemple dans les brevets US 6,096,070; 5,824,049; 5,624,411; 5,609,629; 5,569,463; 5,447,724; et 5,464,650. L'utilisation de stents pour la libération de médicaments est décrite par exemple dans les documents WO 01/01957, US 6,099,561; 6,071,305; 6,063,101; 5,997,468; 5,980,551; 5,980,566; 5,972,027; 5,968,092; 5,951,586; 5,893,840; 5,891,108; 5,851,231; 5,843,172; 5,837,008; 5,769,883; 5,735,811; 5,700,286; 5,679,400; 5,649,977; 5,637, 113; 5,591,227; 5,551,954; 5,545,208; 5,500,013; 5,464,450; 5,419,760; 5,411,550; 5,342,348;

5,286,254; et 5,163,952. Des méthodes d'habillage de stents sont décrites notamment dans les documents US 6,409,716; 6,464,893; et 5,356,433.

5 Toutefois l'art antérieur ne décrit pas de substances capables de former un habillage pour des stents, se présentant sous forme de liposome, et présentant des propriétés à la fois anti-coagulantes et immuno-modulatrices. Dans les utilisations de l'art antérieur, il faut administrer au patient deux médicaments distincts à savoir une substance anti-coagulante et une substance immuno-modulatrice.

10 On rappelle que les liposomes ont le grand intérêt de servir de vecteurs à la fois pour des composés pharmaceutiquement actifs apolaires et polaires. Cette forme liposome permet ainsi d'administrer sur un même site ces deux types de composés.

15 L'invention vise à pallier les inconvénients de l'art antérieur, et en particulier à obtenir une composition ayant des propriétés à la fois anti-coagulantes et immuno-modulatrices, capable d'être associée à des équipements tels que des stents, et se présentant sous la forme de liposomes de manière à obtenir une libération appropriée de la substance.

Les inventeurs ont réussi à obtenir une telle substance à partir de sangsues médicinales.

20 De l'art antérieur est connue une méthode d'obtention d'un complexe destabilase, désigné prototype, utilisant une étape de chromatographie par affinité sur un support insoluble dans l'eau (agarose activée CNBr, par exemple) portant de la lysine immobilisée (REF). L'extrait est véhiculé par un tampon à pH inférieur au pH neutre, le pH est neutralisé, puis ont lieu une dialyse et une lyophilisation. Cependant, l'élution du produit final à partir de la lysine immobilisée à l'aide d'un tampon à faible pH inférieur à 9, ne permet pas d'obtenir un complexe destabilase apte au stockage
25 souhaité et à l'activité enzymatique suffisante recherchée. En effet, la molécule de destabilase extraite par ce procédé se présente sous forme d'un complexe enzymatique monomérique instable qui subit un changement de conformation, qui lui fait perdre sa capacité à former un complexe enzymatique sous forme polymérique. Le complexe enzymatique sous forme de monomère n'a plus la capacité de se structurer de manière
30 souhaitable en polymère, polymère qui s'organise en liposome. Les complexes connus (prototypes) produits par les sangsues médicinales forment un complexe d'hirudine, de prostaglandine, de destabilase, et d'inhibiteurs de kallikréine du plasma sanguin dans le rapport 1 : 1 : 1 : 1.

35 Les inventeurs ont réussi à obtenir un complexe monomérique de destabilase qui est stable et capable de s'agréger en polymère s'organisant en liposome. Ainsi l'invention

a pour objet selon un premier aspect un procédé d'obtention d'un complexe stable de destabilase à partir de sangsues médicinales, ledit procédé comprenant une étape de purification utilisant des anticorps de la 6-keto-prostaglandine.

La purification est faite par chromatographie, de préférence chromatographie par affinité. Ce procédé comprend :

- une chromatographie d'affinité avec lesdits anticorps de la 6-keto-prostaglandine immobilisés sur une colonne appropriée, de préférence de la 6-keto-PGF_{1α} ;
- l'élution à force ionique élevée du complexe destabilase.

Ledit complexe de destabilase obtenu par ce procédé est sous forme de monomère et comprend de la destabilase et au moins un composé du groupe hirudine, prostaglandine, inhibiteur de kallikréine.

On peut également combiner l'action d'anticorps anti 6-keto-PGF_{1α} et de lysine sépharose.

Selon un autre aspect l'invention concerne ce complexe de destabilase stable, sous forme de monomère capable de s'agréger en polymère formant un liposome, susceptible d'être obtenu par le procédé ci-dessus. Ce complexe monomère est en effet nouveau et inventif car les complexes de destabilase de l'art antérieur n'étaient pas stables, et les procédés antérieurs ne permettaient pas de l'obtenir.

L'invention concerne également le complexe de destabilase polymérique, s'organisant sous forme de liposome (complexe désigné complexe destabilase liposome), obtenu à partir de ce complexe monomère. Le complexe destabilase liposome présente, tout comme le complexe destabilase monomérique, des propriétés pharmaceutiques très utiles, à savoir typiquement une activité antithrombine d'au moins 500, de préférence d'au moins 600 ou 700 ATU/mg, une durée de recalcification du plasma d'au moins 800 APC/mg, une activité fibrinolytique d'au moins 40 mm²/mg. L'action antithrombique et thrombolytique est nettement améliorée par rapport au contrôle et au prototype.

L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant un complexe destabilase liposome et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Le terme transporteur pharmaceutiquement acceptable est utilisé pour désigner un matériau non toxique, solide ou liquide diluant ou encapsulant, qui ne réagit pas sur le composé actif de manière négative pour son efficacité.

L'invention concerne également une composition cosmétique comprenant ce complexe de destabilase liposome.

L'invention concerne également le complexe de destabilase liposome en tant que médicament, et l'utilisation d'un complexe de destabilase monomère ou polymère liposome pour la préparation d'un médicament présentant une activité anti-coagulante et immuno-modulatrice.

- 5 L'invention concerne également un dispositif de purification d'un complexe de destabilase à partir de sangsues médicinales, comprenant une colonne d'affinité chargée avec des anticorps anti 6-keto-prostaglandine.

L'invention concerne également une prothèse médicale implantable, dans laquelle au moins une partie de la prothèse est couverte avec un habillage, ledit habillage
10 comprenant un complexe destabilase liposome, notamment un support stent.

D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront dans la description détaillée qui suit.

- 15 Le procédé selon l'invention comprend une étape de chromatographie par affinité à l'aide d'anticorps de 6-keto-PGF 1α (6-keto-prostaglandine F 1α), immobilisés sur un support insoluble dans l'eau. Le principe de la chromatographie par immuno-affinité est connu de l'homme du métier et repose sur la spécificité d'anticorps mono ou polyclonaux pour capturer des antigènes protéiques spécifiques à partir d'extraits naturels complexes. Par contre les inventeurs ont réussi à obtenir de façon tout à fait
20 surprenante un complexe destabilase aux activités biologiques conservées à la fois anti-coagulantes et immuno-modulatrices, et capable de se structurer en liposomes.

- Les anticorps sont couplés à une phase solide chromatographique, typiquement d'agarose, par des liaisons covalentes (bromure de cyanogène par exemple CNBR), ou d'autres couplages chimiques ciblant les groupes amino, hydroxyle, carboxyle ou
25 sulphidryle des immunoglobulines de manière à former une matrice solide. La phase solide couplée aux anticorps est alors placée dans une colonne de chromatographie par affinité. Le mélange de l'antigène cible et des contaminants est dilué dans un tampon de liaison puis appliqué sur la colonne. Les contaminants non adsorbés sont éliminés par le lavage avec différents tampons. L'élution de l'antigène protéique cible est
30 ensuite obtenue en utilisant par exemple des conditions de pH extrêmes, des changements de forces ioniques.

L'hirudine et les inhibiteurs de kallikréine ont une activité seulement dans la phase aqueuse. La destabilase a une activité seulement dans la phase non aqueuse.

Le procédé mis au point par les inventeurs permet d'obtenir un complexe présentant des propriétés hydrophobes conditionnées par le composant prostaglandine, et des propriétés hydrophiles par les polypeptides du liposome.

La forme monomère du complexe destabilase a un poids moléculaire de 25 kDa, est stable, présente une capacité d'agrégation qui se traduit par la formation de liposomes. Elle est obtenue à partir d'extraits totaux de sangsues, ou d'une fraction en particulier des sécrétions de glandes salivaires ou du sang du tube digestif de la sangsue. A l'issue de la purification par chromatographie par affinité, le complexe destabilase obtenu comprend les composants suivants : hirudine, prostaglandine (substance analogue à la prostacycline), inhibiteur de kallikreine, destabilase. Le complexe destabilase présente les propriétés suivantes : activité antithrombotique par l'hirudine, augmentation du temps de recalcification du plasma sanguin par les inhibiteurs de kallikreine, blocage de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire par les substances analogues aux prostacyclines, dissolution de fibrines stabilisés par la destabilase.

Ces propriétés du complexe destabilase déterminent son efficacité antithrombotique, thrombolytique (2,5 fois supérieures à celles du prototype), immuno-modulatrice, et son activité hypotensive complètement absente chez le prototype.

On présente ci-après les méthodes de mesure de l'activité biologique utilisées pour l'extrait de sangsues purifié et sous forme de liposome, puis quatre exemples de réalisation démontrant l'activité à la fois anti-coagulante et immuno-modulatrice du complexe destabilase selon l'invention.

1/ L'activité antithrombine est déterminée par l'allongement de la durée de précipitation du fibrinogène par la thrombine. On détermine la durée de formation d'un précipité dans un système comprenant 0,2 ml d'une solution de fibrinogène à 0,3%, et 0,1 ml du complexe destabilase après fixation 0,1 ml d'une solution de thrombine comprenant une unité d'activité thrombine. L'activité de l'hirudine est exprimée en unités internationales antithrombines (ATU NIH).

2/ Le temps de recalcification du plasma sanguin est déterminé dans un système comprenant 0,1 ml de plasma sanguin citrique et 0,1 ml de complexe destabilase après fixation de 0,1 ml d'une solution 0,025 M de CaCl_2 . L'augmentation de ce paramètre par deux correspond à une unité APC.

3/ Le contenu en prostaglandines est déterminé en utilisant un radio immuno-essai pour le 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ obtenu auprès de la Compagnie « Amersham ».

4/ L'action antithrombotique du complexe destabilase est déterminée sur des rats en utilisant la méthode de thromboformation de Wessler (5). Le niveau de blocage de la thromboformation est évalué par rapport au contrôle. Pour cela on étudie les résultats suite à une séparation de 4 heures entre l'injection du complexe destabilase et une

5 injection de sérum sanguin humain activé par le froid. Ce degré de blocage est exprimé en % par rapport au contrôle (volume égal d'une solution saline normale).

5/ L'action hypotensive est déterminée suite à l'administration orale de 0,2 ml d'un complexe destabilase chez des rats d'une lignée SHR (spontanément hypertensive). Le niveau initial de pression était de 165 ± 5 mm. Après 10 heures d'analyse, le niveau de

10 pression chez le rat est mesuré dans la veine tail. Le niveau d'efficacité hypotensive est exprimé en pourcentage par rapport au contrôle (volume égal administré d'une solution saline normale).

6/ L'activité cytophage de neutrophiles est déterminée par la méthode connue de Chernushenko (6). Les recherches ont été effectuées sur vingt rats pubères. Une

15 solution aqueuse de complexe destabilase a été injectée en intraveineuse quotidiennement pendant dix jours à une dose de 0,5 ml ($n = 10$). Un volume égal d'une solution 0,85% NaCl a été injecté chez des animaux contrôle ($n = 10$). A l'issue du délai approprié, du sang a été collecté chez les animaux, et l'activité cytophage des neutrophiles a été étudiée. Un index de phagocytose a été défini : un index cytophage

20 (CI) et un pourcentage de phagocytose (Ph).

7/ L'influence sur l'activité cellulaire a été étudiée en mesurant l'inhibition de l'activité de composants du système du complément. On a utilisé également une méthode de définition de l'activité hémolytique du sérum humain dilué (7).

Les résultats ont été les suivants.

25 Exemple 1.

Le protocole est le suivant :

- Prendre dix sangsues médicinales (au total 12 g), homogénéiser, mélanger à de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume total d'homogénate de 24 ml (ratio en volumes 1 :1), broyer, collecter le surnageant.

30 - Mettre le surnageant de l'homogénate sur une colonne d'agarose comportant des anticorps immobilisés anti 6-keto-PGF 1α .

L'élution est obtenue par un tampon comprenant 0,2 M de glycine avec 0,15 M HCl et 0,5 M NaCl. Le volume de l'éluat est de 35 ml.

Comme cela est visible sur le tableau 1, le produit final a une activité fibrinolytique,

35 antithrombine, augmente le temps de recalcification, contient de la prostaglandine, et

en plus du fort potentiel antithrombolytique, possède une action hypotensive réduisant la pression artérielle de 25% (la ramenant pratiquement à la normale).

Exemple 2.

5 5 ml d'une sécrétion de glandes salivaires de sangsues ont été introduits dans une colonne d'agarose avec des anticorps immobilisés anti 6-keto-PGF_{1α}. L'élution est obtenue à l'aide d'un tampon phosphate 0,5 M, pH 6,4. Le volume de l'éluat est de 10 ml.

10 Comme indiqué sur le tableau 1, le produit final a une activité fibrinolytique antithrombine, augmente le temps de recalcification, contient de la prostaglandine, et en plus d'un fort potentiel antithrombique et thrombolitique, possède une action hypotensive, réduisant la pression artérielle de 25% (la ramenant pratiquement à la normale). Le complexe destabilase augmente l'index cytophage et le pourcentage de phagocytose (tableau 1), démontrant l'action immuno-stimulative.

15

Exemple 3.

10 ml de sang du tube digestif de sangsues médicinales (trois mois après leur dernier repas) ont été placés dans une colonne de L-Glutamine-Sépharose. L'élution est obtenue avec une solution 1 M KCl. Le volume de l'éluat est de 20 ml. Comme
20 indiqué sur le tableau 1, le produit final a une activité fibrinolytique antithrombine, augmente le temps de recalcification, contient de la prostaglandine, et en plus d'un fort potentiel antithrombique et thrombolytique, possède une action hypotensive, réduisant la pression artérielle de 25% (la ramenant pratiquement à la normale). Le complexe destabilase augmente l'index cytophage et le pourcentage de phagocytose (tableau 1),
25 démontrant l'action immuno-stimulative.

Exemple 4.

Le protocole est le suivant : prendre vingt sangsues médicinales (au total 21 g), extraire la partie avant de l'animal, homogénéiser, et recueillir l'extrait aqueux. 10 ml de
30 l'extrait sont placés dans une colonne de L-Lysine-Sépharose. L'élution est obtenue avec une solution 1 M KCl. Le volume de l'éluat est de 20 ml.

35 Comme indiqué sur le tableau 1, le produit final a une activité fibrinolytique antithrombine, augmente le temps de recalcification, contient de la prostaglandine, et en plus d'un fort potentiel antithrombique et thrombolytique, possède une action hypotensive, réduisant la pression artérielle de 25% (la ramenant pratiquement à la

normale). Le complexe destabilase augmente l'index cytophage et le pourcentage de phagocytose (tableau 1), démontrant l'action immuno-stimulative.

Tableau 1 : définition activités d'extraits de sangsues.

5

Index	Contrôle	Exemples				
		N°1	N°2	N°3	N°4	Prototype
Activité antithrombine ATU/mg	74±6	835±45	875±68	775±44	865±34	250±20
Temps de recalcification du plasma sanguin APC/mg	115±14	1025±86	930±52	950±50	1030±72	438±35
Activité fibrinolytique Mm ² /mg	9±4	58±5	49±5	52±7	50±6	26±5
Prostaglandines ηg/mg	729±35	955±20	800±34	870±54	900±44	85±13
% action antithrombotique	60±4	100	100	100	100	65±5
% action thrombolytique	10±5	80±5	75±5	70±5	75±5	10±5
% action hypotensive	8±3	25±5	25±5	20±5	25±5	0
Index cytophage	1,8±0,7	6,4±1,1	5,9±0,8	6,3±1,0	6,0±0,7	0,8±0,3
% phagocytoses	45,4±6,3	75,4±6,0	71,4±7,3	68,5±8,0	69,7±6,6	35,7±6,7
Activité immuno-modulatrice	-	+	+	+	+	-

En ce qui concerne l'application de l'extrait purifié sur les stents, l'homme du métier dispose d'un grand nombre de méthodes possibles. Ainsi les stents supports du complexe destabilase obtenu par les inventeurs peuvent être de types très variés. Par exemple un stent présentera une surface polymérique externe sur laquelle sera placée

une matrice gélatineuse, la matrice incluant le complexe de destabilase sous forme de liposomes. Selon une réalisation, la surface polymérique sera liée par des liaisons covalentes avec la matrice gélatineuse. Le gel polymérique peut avoir par exemple une épaisseur de 10 à 50 μm à l'état non comprimé. Ce gel peut être choisi par exemple

5 dans le groupe constitué par des acides polycarboxyliques, des polymères cellulosiques, de la gélatine, de la polyvinylpyrrolidone, des polymères anhydrides maléiques, des polyamides, des alcools polyvinyliques, des oxydes de polyéthylène, de l'acide polyacrylique.

REVENDICATIONS

1. Procédé d'obtention d'un complexe stable de destabilase à partir de sangsues
médicinales, ledit procédé comprenant une étape de purification utilisant des anticorps
5 de la 6-keto-prostaglandine.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la purification est faite par
chromatographie, de préférence chromatographie par affinité.
- 10 3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend :
 - une chromatographie d'affinité avec lesdits anticorps de la 6-keto-prostaglandine
immobilisés sur une colonne appropriée ;
 - l'élution à force ionique élevée du complexe destabilase.
- 15 4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit
complexe de destabilase comprend de la destabilase et au moins un composé du groupe
hirudine, prostaglandine, inhibiteur de kallikréine.
- 20 5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ladite
prostaglandine est la 6-keto-PGF1 α .
- 25 6. Complexe de destabilase stable, sous forme de monomère, capable de s'agréger en
complexe destabilase polymère formant un liposome, susceptible d'être obtenu par un
procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5.
- 30 7. Complexe de destabilase sous forme de liposome, obtenu à partir d'un complexe
monomère selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il présente une activité
antithrombine d'au moins 700 ATU/mg, une durée de recalcification du plasma d'au
moins 800 APC/mg, une activité fibrinolytique d'au moins 40mm²/mg.
8. Composition pharmaceutique comprenant un complexe destabilase selon la
revendication 7 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
- 35 9. Composition cosmétique comprenant un complexe de destabilase selon la
revendication 7.

10. Complexe de destabilase selon la revendication 7 en tant que médicament.
- 5 11. Utilisation d'un complexe de destabilase selon la revendication 6 ou 7 pour la préparation d'un médicament présentant une activité anti-coagulante et immuno-modulatrice.
- 10 12. Dispositif de purification d'un complexe de destabilase à partir de sangsues médicinales, comprenant une colonne d'affinité chargée avec des anticorps anti 6-keto-prostaglandine.
- 15 13. Prothèse médicale implantable, dans laquelle au moins une partie de la prothèse est couverte avec un habillage, ledit habillage comprenant un complexe de destabilase selon la revendication 7.
14. Prothèse implantable selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un support stent.

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

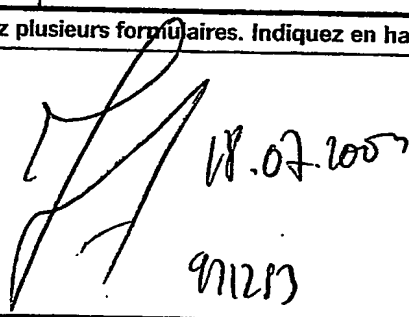
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° - 1/1 - ...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		239948 D20478 AD	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0210042	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)			
EXTRAITS DE SANGSUES POUR STENTS.			
LE(S) DEMANDEUR(S) :			
RICARIMPEX 245, avenue de Saint Médard 33320 EYSINES FRANCE			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :			
1 Nom		LATRILLE Jacques	
Prénoms			
Adresse	Rue	245, avenue de Saint Médard	
	Code postal et ville	33320 EYSINES FRANCE	
Société d'appartenance (facultatif)			
2 Nom		NIKONOV Guennady I.	
Prénoms			
Adresse	Rue	Kamensky District Pes Oktobriaskaya 40	
	Code postal et ville	MOSCOU RUSSIE	
Société d'appartenance (facultatif)			
3 Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)			
 18.07.2003 911213			